

## ***Les méthodes de biologie cellulaire et moléculaire***

### **Les méthodes d'observation**

#### **Cocher la (ou les) proposition(s) vraie(s)**

1. Concernant les constituants du microscope photonique :
  - A. La lentille la plus proche de l'objet est l'objectif.
  - B. Le condenseur permet de concentrer la lumière sur l'objet.
  - C. L'objectif permet un grossissement supplémentaire de l'image projetée par l'oculaire.
  - D. L'objectif peut être remplacé par une caméra vidéo dans le cas de la vidéomicroscopie.
  - E. Le microscope photonique possède le plus souvent un objectif unique.
  
2. Concernant le pouvoir de résolution d'un microscope :
  - A. Il augmente linéairement avec le grossissement.
  - B. C'est un paramètre fixe indépendant du type de microscope.
  - C. Le pouvoir de résolution du microscope optique est différent de celui du microscope électronique.
  - D. Le pouvoir de résolution du microscope électronique à balayage est différent de celui du microscope électronique à transmission.
  - E. Le pouvoir de résolution du microscope électronique à balayage est meilleur que celui du microscope électronique à transmission.
  
3. La limite de résolution d'un microscope optique :
  - A. Est la distance à laquelle deux objets séparés peuvent être clairement distingués.
  - B. Dépend de la longueur d'onde de la lumière visible.
  - C. Dépend de l'ouverture numérique du système de lentille utilisé.
  - D. Dépend de l'angle du faisceau d'électrons par rapport à l'objet.
  - E. Est égale au produit des grossissements des lentilles objectif et oculaire.
  
4. Le microscope optique permet généralement de discerner clairement la forme des :
  - A. Cellules animales et végétales.
  - B. Mitochondries et chloroplastes.
  - C. Bactéries et noyaux des eucaryotes.
  - D. Virus et ribosomes.
  - E. Atomes et molécules.

5. Le microscope à contraste de phase :
- A. Est un microscope optique.
  - B. Est un microscope électronique.
  - C. Permet l'observation de cellules vivantes.
  - D. Permet de régler les problèmes de décalage de phase de la lumière, liés à la structure des cellules vivantes observées.
  - E. Permet d'apprécier les mouvements cytoplasmiques lors de la migration cellulaire.
6. Quel est le chemin optique dans le microscope photonique ? Répondre en indiquant l'ordre exact :
- a. Lentille oculaire.
  - b. Lentille du condenseur.
  - c. Lentille objectif.
  - d. Echantillon.
  - e. Source lumineuse.

Répondre par :

- A. d – e – b – c – a.
  - B. e – d – b – c – a.
  - C. e – b – d – c – a.
  - D. e – b – d – a – c.
  - E. d – e – c – b – a.
7. Lors de la préparation d'échantillons pour la microscopie photonique, l'étape de fixation :
- A. Utilise souvent des aldéhydes comme le formaldéhyde et le glutaraldéhyde.
  - B. Rend les cellules perméables aux colorants.
  - C. Réunit transversalement les protéines par l'utilisation du formaldéhyde.
  - D. Peut se faire par congélation.
  - E. Est réalisée après l'étalement des coupes sur lames porte-objet.
8. Lors de la préparation d'échantillons pour la microscopie photonique, le bain de paraffine :
- A. Permet la fixation de l'échantillon.
  - B. Permet l'inclusion de l'échantillon.
  - C. Est précédé d'une étape d'hydratation de l'échantillon.
  - D. Est précédé d'une étape de déshydratation de l'échantillon.
  - E. Est réalisé après l'étape de coloration afin de permettre l'imprégnation du colorant.
9. Lors de la préparation d'échantillons pour la microscopie photonique, l'étape d'inclusion de l'échantillon :
- A. Utilise de la paraffine chaude qui polymérise à froid pour former un bloc.

- B. Facilite la microtomisation.
  - C. Implique une hydratation préalable de l'échantillon.
  - D. Implique la déshydratation préalable de l'échantillon.
  - E. Nécessite un passage de l'échantillon dans un bain de toluène.
- 10.** Lors de la préparation des coupes pour la microscopie photonique, la microtomisation permet d'obtenir des rubans de coupes incluses dans la paraffine. Les rubans de coupes sont alors étalés sur une lame de verre. Quelle est l'étape suivante ?
- A. Bain d'eau distillée.
  - B. Bain d'alcool à degrés croissant.
  - C. Bain d'alcool à degrés décroissant.
  - D. Coloration.
  - E. Bain de toluène.
- 11.** Lors de la préparation des coupes pour la microscopie photonique, la microtomisation permet d'obtenir des rubans de coupes incluses dans la paraffine. Les rubans de coupes sont alors étalés sur une lame de verre. Donner l'ordre exact des étapes qui suivent l'étalement des rubans de coupes sur la lame de verre.
- a. Bain d'eau distillée.
  - b. Montage lamelle sur lame.
  - c. Bain d'alcool à degrés décroissant.
  - d. Coloration.
  - e. Bain de toluène.
- Répondre par :
- A. e – d – b – c – a.
  - B. c – e – a – d – b.
  - C. e – c – a – d – b.
  - D. c – a – e – d – b.
  - E. e – a – c – d – b.
- 12.** Le microscope à fluorescence est basé sur :
- A. La déviation d'un flux de particules chargées, les électrons.
  - B. La déviation d'un flux de particules non chargées, les photons.
  - C. La détection des électrons émis par l'échantillon observé.
  - D. L'utilisation de molécules qui absorbent la lumière à une certaine longueur d'onde et émettent de la lumière à une longueur d'onde plus faible.
  - E. L'utilisation de molécules qui absorbent la lumière à une certaine longueur d'onde et émettent de la lumière à une longueur d'onde plus élevée.
- 13.** Contrairement au microscope photonique classique, le microscope à fluorescence possède :
- A. Une lampe blanche classique et une lampe à fluorescence.
  - B. Un système qui filtre la lumière avant qu'elle n'atteigne l'échantillon.

- C. Un système qui filtre la lumière qui provient de l'échantillon.
  - D. Un miroir dichroïque qui réfléchit la lumière issue de la source lumineuse vers l'échantillon.
  - E. Des lentilles électromagnétiques.
- 14.** En microscopie à fluorescence, l'utilisation :
- A. De la fluorescéine permet de détecter une fluorescence verte spécifique des protéines mitochondriales de la chaîne respiratoire.
  - B. Du colorant fluorescent G.F.P permet d'observer une fluorescence verte.
  - C. Du colorant fluorescent D.A.P.I permet de colorer spécifiquement l'ADN.
  - D. D'un même jeu de filtres permet de visualiser simultanément la fluorescence de plusieurs fluorochromes et donc d'apprécier la distribution de différentes molécules dans la cellule.
  - E. D'anticorps couplés à la rhodamine permet de détecter spécifiquement des molécules dans la cellule.
- 15.** Lors de l'observation au microscope à fluorescence avec utilisation de la fluorescéine :
- A. Le filtre d'excitation laisse passer uniquement la lumière de longueur d'onde comprise entre 450 nm et 490 nm.
  - B. Le filtre d'excitation laisse passer uniquement la lumière de longueur d'onde comprise entre 500 nm et 540 nm.
  - C. Le filtre d'émission laisse passer la lumière de longueur d'onde comprise entre 650 nm et 690 nm.
  - D. Le filtre d'émission laisse passer la lumière de longueur d'onde comprise entre 520 nm et 560 nm.
  - E. Le miroir réfléchit la lumière de longueur d'onde comprise entre 520 nm et 560 nm.
- 16.** Vous utilisez la technique d'immunocytochimie indirecte afin de détecter au microscope à fluorescence des complexes antigène-anticorps. Le marqueur utilisé est :
- A. Une enzyme, la peroxydase de raifort.
  - B. L'or colloïdal.
  - C. Un fluorochrome.
  - D. Couplé à un anticorps primaire qui est dirigé contre l'antigène.
  - E. Couplé à un anticorps secondaire qui est dirigé contre l'anticorps primaire.
- 17.** Concernant le microscope confocal à fluorescence :
- A. C'est un microscope électronique particulier qui permet l'observation d'un focal unique de l'échantillon.
  - B. L'image est formée à partir des électrons émis par l'échantillon.
  - C. Il permet la production de coupes optiques en éliminant la lumière hors focale.
  - D. La source lumineuse est fournie par une lampe de tungstène.

- E. La source lumineuse est fournie par un laser.
- 18.** Le microscope électronique à balayage :
- A. Permet d'explorer la surface d'un échantillon.
  - B. Utilise un faisceau d'électrons fin qui balaie point par point la surface de l'échantillon.
  - C. Utilise les électrons qui sont émis à partir de la surface de l'échantillon.
  - D. A une limite de résolution de 2  $\mu\text{m}$ .
  - E. A une limite de résolution de 2 nm.
- 19.** Par rapport au microscope électronique à transmission, le microscope électronique à balayage :
- A. Fournit une profondeur de champ inférieure.
  - B. Fournit une profondeur de champ supérieure.
  - C. A une limite de résolution meilleure.
  - D. A un grossissement maximal inférieur.
  - E. A un grossissement maximal supérieur.
- 20.** Le microscope électronique à transmission :
- A. La tension maximale d'accélération des électrons est de 20 keV.
  - B. La limite de résolution est de 20 nm.
  - C. Le grossissement maximal est de 10 000.
  - D. La source d'électrons est située au sommet d'une colonne cylindrique haute.
  - E. L'air situé dans la colonne augmente l'accélération des électrons.
- 21.** Le microscope électronique à transmission (T.E.M) :
- A. La source d'électrons est une cathode de tungstène chauffée électriquement.
  - B. La tension d'accélération entre cathode et anode est de 50 à 100 volts.
  - C. La colonne du microscope doit être sous vide.
  - D. Des lentilles de verre focalisent les électrons sur l'échantillon.
  - E. L'échantillon n'est jamais traversé par les électrons.
- 22.** Préparation des échantillons pour la microscopie électronique à transmission :
- A. L'étape de fixation utilise le glutaraldéhyde.
  - B. L'étape de fixation utilise le tétr oxyde d'osmium.
  - C. L'échantillon correctement déshydraté est inclus dans une résine.
  - D. Le bloc de résine contenant l'échantillon doit être coupé à l'aide d'une lame fine en sections de 5 à 10  $\mu\text{m}$ .
  - E. Les coupes fines obtenues sont récupérées sur une grille de cuivre circulaire.
- 23.** Vous incubez des coupes de tissu avec un anticorps primaire spécifique puis avec un anticorps secondaire fixé à une particule d'or colloïdal. L'observation des complexes anticorps-antigène :
- A. Repose sur la technique d'immunocytochimie directe.

- B. Repose sur la technique d'immunocytochimie indirecte.
- C. Nécessite l'utilisation d'un microscope à fluorescence.
- D. Nécessite l'utilisation d'un microscope électronique à balayage.
- E. Nécessite l'utilisation d'un microscope électronique à transmission.

24. L'ombrage métallique :

- A. Le métal lourd est vaporisé perpendiculairement à la surface de l'échantillon.
- B. Le métal lourd est vaporisé obliquement à la surface de l'échantillon.
- C. Un film de carbone doit être évaporé avant le métal lourd.
- D. Permet d'apprécier les caractéristiques de surface d'un échantillon.
- E. Est suivit de la formation d'une réplique carbone-métal pour les échantillons épais.

25. Pour préparer une réplique par ombrage métallique d'une surface d'échantillon, plusieurs étapes sont nécessaires. Classer les étapes suivantes :

- a. Réplique placée sur une grille de cuivre.
- b. Film de carbone évaporé à la surface de l'échantillon.
- c. Utilisation d'un solvant puissant (soude par exemple).
- d. Métal lourd vaporisé à la surface de l'échantillon.

Répondre par :

- A. d – c – b – a.
- B. b – d – c – a.
- C. d – b – c – a.
- D. c – b – d – a.
- E. a – d – b – c.

26. A propos de la microscopie électronique après cryofracture :

- A. Elle permet d'observer l'intérieur des membranes cellulaires.
- B. La préparation de l'échantillon utilise la technique de l'ombrage métallique.
- C. Un cryodécapage doit précéder la cryofracture.
- D. Elle permet d'apprécier la distribution des protéines membranaires.
- E. Elle donne un meilleur relief des surfaces d'échantillon que la microscopie électronique à balayage.

27. Classer les étapes suivantes qui concernent la préparation d'un échantillon pour la microscopie électronique par cryodécapage :

- a. Congélation de l'échantillon.
- b. Sublimation de la glace.
- c. Métal lourd évaporé obliquement.
- d. Echantillon soumis à une lame de couteau.

Répondre par :

- A. a – c – d – b.
- B. a – d – c – b.
- C. a – b – d – c.
- D. a – b – c – d.
- E. a – d – b – c.

**28.** La coloration négative :

- A. Est particulièrement utilisée pour observer les virus, les ribosomes, les protéines filamenteuses.
- B. Les structures observées apparaissent sombres sur fond clair.
- C. Les structures observées apparaissent claires sur fond sombre.
- D. Les structures observées arrêtent les électrons qui sont réfléchis vers un écran fluorescent.
- E. Les structures observées sont traversées par les électrons.

**29.** Des macromolécules sont préparées pour une coloration négative. Classer les étapes suivantes de la technique de coloration utilisée :

- a. Pulvérisation de la suspension de macromolécules sur une grille recouverte d'un film fin de carbone.
- b. Pulvérisation d'acétate d'uranyl sur les macromolécules.
- c. Séchage permettant d'entraîner le métal lourd entre les macromolécules.
- d. Séchage de la suspension de macromolécules en évaporant l'eau.

Répondre par :

- A. b – a – c – d.
- B. b – c – a – d.
- C. a – b – d – c.
- D. a – b – c – d.
- E. a – d – b – c.

**30.** Un échantillon est fixé dans un mélange glutaraldéhyde-tétroxyde d'osmium (Tx-Os) puis préparé par coloration positive :

- A. Le Tx-Os réagit avec les fonctions NH<sub>2</sub> des protéines membranaires.
- B. Le Tx-Os réagit avec les fonctions insaturées des lipides membranaires.
- C. En plus de la fixation, le Tx-Os agit également comme un agent colorant.
- D. Les membranes apparaissent claires à l'observation.
- E. Les membranes apparaissent sombres à l'observation.

**31.** Pour la coloration positive :

- A. L'échantillon est pulvérisé sur une grille recouverte d'un film fin de carbone.
- B. L'échantillon déposé sur une grille flotte dans une solution de métal lourd.

- C. La pulvérisation d'acétate d'uranyl se poursuit par un séchage permettant d'entraîner le métal entre les molécules de l'échantillon.
- D. Les structures observées apparaissent sombres sur fond clair.
- E. Les structures observées apparaissent claires sur fond sombre.
- 32.** L'aequorine est :
- A. Comme la rhodamine et la fluorescéine, un fluorochrome non spécifique utilisé en microscopie à fluorescence.
- B. Comme la GFP, utilisée pour étudier l'expression génique.
- C. Comme la GFP, extraite d'une méduse.
- D. Une protéine luminescente.
- E. Une protéine fluorescente.
- 33.** L'aequorine est une protéine :
- A. Luminescente qui détecte la variation de concentration de chlore dans une cellule.
- B. Luminescente qui détecte la variation de concentration des cations ( $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$ ) intracellulaires.
- C. Fluorescente dont la fluorescence est fonction de la concentration calcique.
- D. Luminescente qui permet de déterminer la concentration calcique intracellulaire.
- E. Luminescente qui émet une lumière lorsque la concentration calcique intracellulaire augmente.
- 34.** Les indicateurs fluorescents utilisés pour détecter les variations de concentration ionique intracellulaire :
- A. Permettent d'apprécier la variation de concentration ionique.
- B. Permettent de mesurer la concentration intracellulaire d'un ion.
- C. Ne sont pas spécifiques.
- D. Sont spécifiques.
- E. Sont représentés par l'aequorine, le quin 2, le fura 2 par exemple.
- 35.** Dans la technique de pulse-chase (poussée-chasse), le pulse :
- A. Consiste à incuber une préparation en présence d'une molécule radioactive.
- B. Consiste à incuber une préparation en présence d'une molécule non radioactive.
- C. Est continue durant toute l'expérience.
- D. Est réalisé pendant une période très courte.
- E. Est suivi d'une autoradiographie pour localiser les molécules radioactives.
- 36.** La technique de pulse-chase (poussée-chasse) :
- A. Peut être utilisée pour suivre la destinée d'une protéine dans la cellule.
- B. Peut être utilisée pour suivre l'ARN après sa synthèse chez les eucaryotes.
- C. Débute par une autoradiographie.
- D. Utilise des isotopes radioactifs de différents éléments.